

СИНТЕЗ ТРЕЙСЕРОВ С ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МЕТКОЙ 5-DTAF ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФТОРХИНОЛОНОВ МЕТОДОМ ПФИА

Киряков В.С.^{*}, Мочульская Н.Н.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина,
г. Екатеринбург, Россия

*E-mail: kiryakov.victor@gmail.com

SYNTHESIS OF FLUORESCENT-5-DTAF-LABELED TRACER FOR DETERMINING FLUOROQUINOLONES BY FPIA

Kiryakov V.S.^{1*}, Mochulskaya N.N.¹

¹⁾ Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

Fluoroquinolones – modern class of antibacterial drugs which are widely used to treat a spectrum of bacterial infections not only in medicine but also in animal husbandry and poultry farming.

На сегодняшний день не существует эффективных мер контроля содержания остаточных количеств антибиотиков в пищевых продуктах. Разработка экспрессных иммунохимических методов анализа, к которым относится поляризационный флуоресцентный иммуноанализ (ПФИА), является актуальной задачей. ПФИА является гомогенным конкурентным методом иммуноанализа, основанным на конкуренции меченого флуоресцентным красителем антигена (трейсера) с немеченым антигеном (определяемым фторхинолоном) за ограниченное количество центров связывания антител. Концентрация анализируемого фторхинолона в пробе определяется степенью связывания трейсера с антителом. Образование такого иммунного комплекса устанавливается путем измерения поляризации флуоресценции, влияние на которую оказывают только тяжелые комплексы Трейсер-Ат [1].

В работе получены гидразиномзамещенные производные Левофлоксацина и Пефлоксацина. На их основе осуществлен синтез трейсеров с флуоресцентной меткой 5-DTAF(5-([4,6-дихлортиазин] аминофлуоресцеин).

Трейсеры проверены на специфичное связывание с 36 видами поликлональных антител животных к различным видам фторхинолонов. При изучении конкуренции трейсеров со стандартами клинических фторхинолонов была обнаружена область определяемых концентраций 0.1-1000 нг/мл (линейный участок S-образной кривой зависимости поляризации от концентрации фторхинолонов в растворе), что соответствует СанПиН 2.3.2.2804-10 для молока (100 нг/мл).

В качестве объекта исследования было выбрано молоко жирности 3.2%. Для проведения теста на процент открытия антибиотиков в молоке были приготовлены образцы с известными концентрациями фторхинолонов (Моксифлоксацин). Работоспособность метода определяли с лучшим трейсером 7-LEV-5-

DTAF по проценту открытия (60-160%), а воспроизводимость – по коэффициенту вариации (не более 10%).

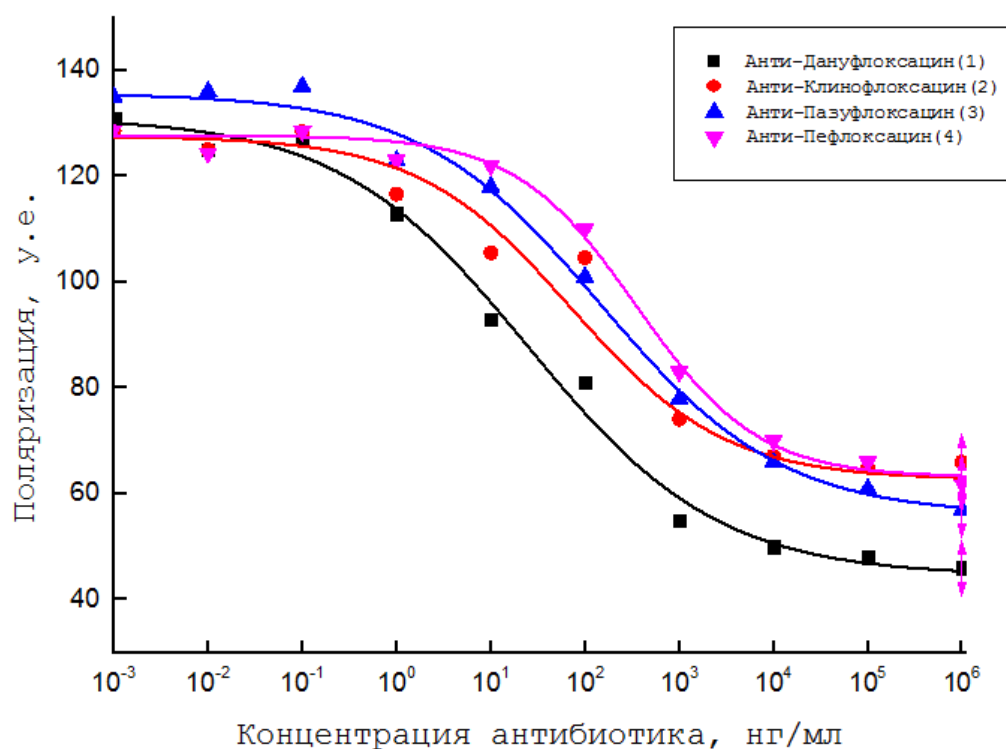


Рис. 1. Замещение Моксифлоксацина трейсером 7-LEV-5-DTAF с различными Ат

Открытие Моксифлоксацина трейсером 7-LEV-5-DTAF в молоке

Введено, нг /мл	Найдено, нг/мл	Коэффициент вариации, %	Процент открытия, %
1000	1246.3±0.05	8	124.6±1
100	110.4±0.05	8	110.4±0.9
10	9.7±0.05	6	97.7±0.6
1	0.976±0.05	6	97.6±0.5
0,1	0.124.6±0.05	5	124.6±0.4

1. David S. Smith, Sergei A. Eremin., Analytical and Bioanalytical Chemistry, July 2008, Volume 391, Issue 5, pp 1499-1507